

# モノアミン含有細胞の微細構造 : 同一切片を使 っての蛍光顕微鏡像と電子顕微鏡像の比較

著者	山本 利春
発行年	1985-06-27
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10422/1571">http://hdl.handle.net/10422/1571</a>

氏名・（本籍） 山 本 利 春 （新潟県）  
学 位 の 種 類 医学博士  
学 位 記 番 号 論医博第2号  
学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当  
学位授与年月日 昭和60年6月27日  
学位論文題目 モノアミン含有細胞の微細構造：同一切片を使つての蛍光顕微鏡像と  
電子顕微鏡像の比較

1. **Monoamine - containing subependymal cells of the lamprey : evidence from combined fluorescence histochemistry and electron microscopy.**  
(ヤツメウナギのモノアミン含有上衣下細胞：蛍光組織化学と電子顕微鏡観察)
2. **Fluorohistochemistry and electron microscopy of the chromaffin cells in the adrenal gland of the clawed toad, *Xenopus laevis*.**  
(アフリカツメガエル副・髄質にみられるクロマフィン細胞の蛍光組織化学と電子顕微鏡観察)

審 査 委 員 主査 教授 前 田 敏 博  
副査 教授 越 智 淳 三  
副査 教授 挾 間 章 忠

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

Falck - Hillarp の組織蛍光法（1962）が発表されて以来、生体組織内でのモノアミン含有細胞の分布が詳細に研究されてきた。モノアミン含有細胞として副腎の髄質細胞や下等脊椎動物の第三脳室壁の上衣下細胞のような、いわゆる神経細胞とは形態的に異なる細胞も知られている。これらの細胞はその分布領域や特徴的な形態にもとづき、電子顕微鏡下では一般に電子密度の高い分泌顆粒を細胞内に含むことが分っている。そこで同一切片を蛍光顕微鏡と電子顕微鏡とで観察することにより、直接これら細胞のもつモノアミンの種類による微細構造の相異の有無を明らかにすることが、この研究の目的である。

### 〔方 法〕

材料としてアフリカツメガエルの副腎とヤツメウナギの第三脳室壁を用いた。含有されるモノアミンはそのホルムアルデヒド誘起蛍光（Falck - Hillarp）を顕微分光分析することにより同定された。同一切片を蛍光顕微鏡と電子顕微鏡とで観察するため、以下の方法を案出した。材料を4%パラホルムアルデヒドと0.5%グルタルアルデヒド混合液で固定し、8%パラホルムアルデヒドと無水エチルアルコールとの段階的な混合液で脱水しエポキシに包埋した。厚さ0.2 $\mu$ mの超薄切片を照合メッシュに載せ、蛍光顕微鏡で観察した後、電子染色を施し電子顕微鏡で観察した。またこの方法によって得られた微細構造を通常の微細構造と比較するため、グルタルアルデヒド-オスミウム二重固定法による通常の電子顕微鏡観察をも行なった。

## 〔結 果〕

アフリカツメガエルの副腎には、黄緑色と弱い青緑色の蛍光を持った2種類の細胞が区別された。これら黄緑色および青緑色蛍光細胞の発光スペクトルの極大は、それぞれ480nmと470nmにあった。一方、励起スペクトルは両細胞とも、410nmに大きい極大、および320nmに小さい極大を示した。3秒間塩酸蒸気で処理すると、黄緑色蛍光細胞の励起極大は370nmと320nmに移行するが、青緑色蛍光細胞は320nmに極大を残した。さらに3分間塩酸蒸気で処理すると、黄緑色蛍光細胞も320nmに極大をもつだけとなった。これら励起スペクトルの変化を純正カテコラミンモデル標本のそれと比較すると、黄緑色および青緑色蛍光はそれぞれノルアドレナリンとアドレナリンの蛍光特性とよく一致した。

ヤツメウナギ第三脳室壁の上衣下細胞層にも黄色および青緑色の蛍光を発する細胞が区別された。これら蛍光の発光スペクトルは、それぞれ510nmと470nmに極大があり、励起スペクトルは両細胞とも、410nmに大きい極大、320nmに小さい極大を示した。3秒間塩酸蒸気で処理すると、黄色蛍光細胞の励起スペクトルは変化しないが、青緑色蛍光細胞の励起スペクトルは変化して370nmと320nmに極大を示すようになった。さらに3分間塩酸蒸気で処理しても、励起スペクトルにはほとんど変化がみられなかった。このような蛍光特性はそれぞれセロトニンとドーパミンのモデル標本のそれと一致した。

副腎髄質の同一切片の蛍光顕微鏡および電子顕微鏡観察により、これら蛍光を発する細胞はいずれも電子密度の高い顆粒を含有する細胞に対応することが分った。これらの細胞は小さい顆粒(100nm)を含むものと大きい顆粒(200nm)を含むものとが区別された。また電子密度の中等度の顆粒を含む細胞が認められ、この細胞は蛍光を発していなかった。一方ヤツメウナギの第三脳室壁では黄色蛍光細胞と青緑色蛍光細胞を比較すると、ともに電子密度の高い顆粒を有し前者がより大きい顆粒をもっていた。これら同一切片によって得られた電子顕微鏡レベルでの差異は、通常の固定による電子顕微鏡観察によっても確認することができた。

## 〔考 察〕

これまで微細構造レベルでは、モノアミン含有細胞は過マンガン酸カリ固定や偽伝達物質の投与などによる有芯小胞の存在を指標にして検索されてきた。新たに案出されたエポソ包埋による組織蛍光法は、同一切片を使うためモノアミン蛍光部位の微細構造を直接観察できるのが特色である。しかしこの方法でも試料の作製途中において蛍光がかなり減弱するため、モノアミンの中でも特にアドレナリンの蛍光はほとんど失われてしまう。したがって副腎髄質の蛍光を発せず中等度の電子密度の顆粒をもつ細胞は、顕微分光分析によって示されるアドレナリン含有細胞に相当するものと思われる。また副腎髄質中の小型の電子密度の高い顆粒をもつ細胞は、Unsicker が1973年に微細構造の点で区別した小顆粒含有細胞(SGC cells)と一致すると思われる。我々の方法により、この細胞が明らかにモノアミンを含むことが証明された。

一方、ヤツメウナギの2種類の上衣下細胞を比較すると、セロトニン含有細胞がドーパミン含有細胞よりも大型の分泌顆粒を有することが示され、両者の微細構造上の相異が明らかになった。

本方法によって得られた興味ある知見は、顆粒のほとんどない原形質の領域もモノアミン蛍光を発するということである。このことはモノアミンが顆粒内のみならず顆粒外にも存在している可能性があることを示唆する。

## 〔結 論〕

以上の所見から、モノアミン含有細胞が電子密度の高い顆粒を有することを確認し、また通常の電子顕微鏡観察でも、含有するモノアミン顆粒の種類によってこれらモノアミン含有細胞を鑑別することがある程度可能となった。

## 学 位 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

この研究の特色は、モノアミン含有構造について光学顕微鏡（光顕）レベルでの知見と、電子顕微鏡（電顕）レベルでの知見を確実に比較しうる方法を考案した点にある。従来の形態学的研究の大部分は、光顕レベルかあるいは電顕レベルかそれぞれ独立した研究であり、両レベルをつなぐものはモノアミン含有構造の分布様式の特徴、あるいは薬物投与による形態学的変化などから判断して間接的に両レベルの知見をつないできた。しかし同じような形態学的特徴を示す細胞が二種類以上混在する場合、電顕レベルで両者を識別することは困難であった。この点を打開する方法を案出したものとして本研究は注目に値する。

本研究ではヤツメウナギ第三脳室壁にみられるカテコラミン含有上衣下細胞とセロトニン含有上衣下細胞に本法を応用している。両者は光顕レベルでは蛍光色の相違によって識別されるが形態学的な特徴は同じである。これを本法を適用することによって電顕レベルで識別を初めて可能とした。

同じように、電顕レベルでのみ識別可能な細胞である副腎髄質のSGC細胞に本法を用いることによって、本細胞の含む電子密度の高い顆粒がモノアミンを含むとする考えを直接支持する結果が得られた。

今後本研究が案出した方法は、モノアミン含有構造が混在する組織において電顕レベルでの研究に有力な手段となるものと思われ、学位論文に価するものと認める。